



DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-3

УДК 575:616-053.2

Изучение роли межлокусных взаимодействий генов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ в формировании задержки роста плода

О.А. Ефремова

Клиника Репродуктивной Медицины имени академика В.И. Грищенко,
ул. Благовещенская, д. 25, г. Харьков, 61052, Украина
Автор для переписки: О.А. Ефремова (efremovaolesya@gmail.com)

Резюме

Актуальность: Задержка развития плода (ЗРП) является одним из наиболее частых осложнений беременности, которое может неблагоприятно сказаться на краткосрочном и долгосрочном здоровье новорожденных. Поиск материнских полиморфизмов генов-кандидатов, вовлеченных в формирование ЗРП является актуальным. **Цель исследования:** Изучить роль межлокусных взаимодействий генов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ в формировании задержки роста плода. **Материалы и методы:** Обследовано 477 беременных женщин (234 женщины – у которых беременность осложнилась задержкой внутриутробного развития плода и 243 женщины, у которых наблюдалось физиологическое течение беременности (группа контроля)). Проводилось изучение SNP×SNP взаимодействий 10 полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ и генов, влияющих на фолатный цикл, ассоциированных с развитием ЗРП, методом снижения размерности (MDR метод в модификации MB-MDR). Валидация результатов проводилась с помощью пермутационного теста (выполнялось 1000 пермутаций). Полиморфизмы, связанные с ЗРП, были проанализированы *in silico* на предмет их функционального значения. Для определения биологических путей использовались программы: Gene Ontology и Genomania. **Результаты:** Установлено 7 наиболее значимых моделей SNP×SNP взаимодействий генов матриксных металлопротеиназ и фолатного цикла, ассоциированных с развитием ЗРП, в состав которых входят восемь из 10 рассматриваемых SNPs: rs1805087 *MTR*, rs1801394 *MTRR*, rs1979277 *SHMT1*, rs1799750 *MMP-1*, rs243865 *MMP-2*, rs3025058 *MMP-3*, rs11568819 *MMP-7*, rs17577 *MMP-9* ($p_{perm} \leq 0,05$). В наибольшее число моделей входят полиморфные локусы rs1979277 (7 моделей), rs243865 (4 модели), rs3025058 (3 модели). Двухлокусная комбинация генотипов ТТ rs243865 *MMP2* x ТТ rs1979277 *SHMT1* ($\beta = -0,68$, $p=0,001$) имеет наиболее значимую ассоциацию с ЗРП. Данные полиморфизмы проявляют выраженные функциональные эффекты по отношению к 38 генам, которые вовлечены в биологические пути метаболизма коллагена (преимущественно в его катаболический распад) и модуляции активности матриксных металлопротеиназ (преимущественно в процессы повышения активности матриксных металлопротеиназ, обуславливающих распад внеклеточного матрикса). **Заключение:** Межлокусные взаимодействия генов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ определяют подверженность к задержке роста плода. **Ключевые слова:** задержка роста плода; гены фолатного цикла; гены матриксных металлопротеиназ; полиморфизм; ассоциации; межгенные взаимодействия

Для цитирования: Ефремова ОА. Изучение роли межлокусных взаимодействий генов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ в формировании задержки роста плода. Научные результаты биомедицинских исследований. 2022;8(1):36-55. DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-3

Studying the role of interlocus interactions of folate cycle genes and matrix metalloproteinases in the formation of fetal growth retardation

Olesya A. Efremova 

Grishchenko Clinic of Reproductive Medicine,
25 Blagoveshchenskaya St., Kharkov, 61052, Ukraine

Corresponding author: Olesya A. Efremova (efremovaolesya@gmail.com)

Abstract

Background: Fetal growth retardation (FGR) is one of the most common pregnancy complications that can adversely affect the short- and long-term health of newborns. The search for maternal polymorphisms of candidate genes involved in the formation of FGR is important. **The aim of the study:** To study the role of interlocus interactions of the folate cycle genes and matrix metalloproteinases in the formation of fetal growth retardation. **Materials and methods:** 477 pregnant women were examined (234 women whose pregnancy was complicated by intrauterine growth retardation and 243 women who had a physiological course of pregnancy (control group)). SNP×SNP interactions of 10 polymorphic loci of matrix metalloproteinase genes and genes affecting the folate cycle associated with the development of FGR were studied using the dimensionality reduction method (MDR method modified by MB-MDR). Validation of the results was carried out using a permutation test (1000 permutations were performed). FGR-related polymorphisms were analyzed in silico for their functional significance. To determine the biological pathways, the following programs were used: Gene Ontology and Genomania. **Results:** The 7 most significant models of SNP×SNP interactions of matrix metalloproteinase genes and folate cycle genes associated with the development of FGR have been established, which include eight of the 10 SNPs under consideration: rs1805087 *MTR*, rs1801394 *MTRR*, rs1979277 *SHMT1*, rs1799750 *MMP-1*, rs243865 *MMP-2*, rs3025058 *MMP-3*, rs11568819 *MMP-7*, rs17577 *MMP-9* ($p_{perm} \leq 0,05$). The largest number of models includes polymorphic loci rs1979277 (7 models), rs243865 (4 models), rs3025058 (3 models). The two-locus combination of TT rs243865 *MMP2* x TT rs1979277 *SHMT1* genotypes ($\beta = -0,68$, $p = 0,001$) has the most significant association with FGR. These polymorphisms exhibit pronounced functional effects in relation to 38 genes that are involved in the biological pathways of collagen metabolism (mainly in its catabolic breakdown) and modulation of the activity of matrix metalloproteinases (mainly in the processes of increasing the activity of matrix metalloproteinases, causing the breakdown of the extracellular matrix). **Conclusion:** Interlocus interactions of folate cycle genes and matrix metalloproteinases determine susceptibility to fetal growth retardation.

Keywords: fetal growth retardation; folate cycle genes; matrix metalloproteinase genes; polymorphism; associations; intergenic interactions

For citation: Efremova OA. Studying the role of interlocus interactions of folate cycle genes and matrix metalloproteinases in the formation of fetal growth retardation. *Research Results in Biomedicine*. 2022;8(1):36-55. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-1-0-3

Введение. Задержка роста плода (ЗРП) является одним из наиболее частых осложнений беременности, которое может неблагоприятно сказаться на краткосрочном и долгосрочном здоровье новорожденных. Подсчитано, что от 3% до 9% беременностей в развитых странах и до 25% беременностей в странах с низким и средним уровнем дохода связаны с ЗРП [1]. Рост плода зависит от материнских факторов (состояние здоровья матери, питание, курение, употребление наркотиков, и др.), факторов плода (наследственные нарушения и др.) и функции плаценты [2, 3]. Наиболее частым патофизиологическим механизмом развития синдрома ЗРП является плацентарная недостаточность, при которой вследствие нарушения плацентарной функции плод не достигает своего внутреннего потенциала роста [4, 5]. Синдром ЗРП, связанный с плацентой, чаще всего возникает из-за плохого ремоделирования спиральных артерий матки на ранних сроках беременности, что приводит к мальперфузии сосудов матери, хотя существует множество других типов причинных плацентарных поражений. При мальперфузии сосудов матери снабжение кислородом и питательными веществами является субоптимальным из-за высокого сопротивления кровотоку в фетоплацентарном кровообращении, уменьшенной поверхности ворсин (гипоплазия), вторичного повреждения при сдвиговом напряжении и инфарктах плаценты. В результате плацента не может обеспечить потребности плода для надлежащего роста и развития на протяжении всей беременности, что приводит к скомпрометированному плоду. Во время родов маточные сокращения в сочетании с нарушением функции плаценты предрасполагают скомпрометированный плод к гипоксическим insultам и асфиксии при рождении. ЗРП вносит основной вклад в перинатальную заболеваемость и смертность и

несет в себе повышенный риск долгосрочных неврологических осложнений и осложнений, связанных с развитием нервной системы. Более того, дети, рожденные с ЗРП, имеют повышенный риск развития сердечно-сосудистых заболеваний во взрослой жизни [2].

В результате многочисленных исследований показаны значимые ассоциации материнских полиморфизмов определенных генов-кандидатов с ростом плода и весом новорожденного [3, 6-8]. Среди генов-кандидатов важное значение в развитии плацентарной недостаточности и задержки развития плода могут играть гены, влияющие на ферменты одноуглеродного метаболизма и гены, определяющие уровень матриксных металлопротеаз (ММП) [9-11].

Одноуглеродный метаболизм участвует в различных физиологических процессах, включая синтез нуклеиновых кислот, гомеостаз аминокислот, эпигенетическую регуляцию, окислительно-восстановительный баланс и развитие нервной системы [12-14]. В последнее время активно изучаются вопросы влияния различных ферментов одноуглеродного метаболизма во время беременности на развитие эмбриона и плода [9, 15, 16]. Основными типами одноуглеродного метаболизма являются цикл фолиевой кислоты, цикл метионина и путь транссульфирования, которые варьируются на разных стадиях беременности (например, программирование метилирования эмбриона, развитие нервной системы плода, рост плода и развитие плаценты). Уровень фолиевой кислоты в организме генетически детерминирован [4, 13]. Специфические генные мутации/полиморфизмы могут быть связаны со снижением уровня/активности ключевых ферментов фолатного цикла и приводить к нарушениям метаболизма фолата [17]. Встречаются единичные исследования, в которых доказывается важная роль полиморфных локусов материнских генов, влияющих на обмен фолиевой

кислоты, в развитии ЗРП [9, 12, 14, 15, 16, 18]. Нарушение регуляции экспрессии ММП и их ингибиторов также имеет большое значение в патогенезе плацентарной недостаточности и задержки роста плода. Немногочисленные исследования показывают роль ММП в нарушении регуляции контролируемого ими процесса инвазии трофобласта, приводя к широкому спектру аномалий беременности [10, 11, 19-21]. Тем не менее, исследование отдельных генов и их полиморфизмов не дает ясной картины, о их роли в формировании ЗРП и требуются дальнейшие исследования по изучению межгенных взаимодействий [22], определяющих подверженность к развитию данного осложнения беременности.

Цель исследования. Изучить роль межлокусных взаимодействий генов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ в формировании задержки роста плода.

Материалы и методы исследования. Обследовано 477 беременных женщин, не имеющих родства между собой, в третьем триместре беременности. Из них у 234 женщин беременность осложнилась задержкой внутриутробного роста плода (диагностика задержки роста плода проводилась сертифицированными врачами акушерами-гинекологами, согласно критериям, изложенным в работах [7, 9, 23]). Степень задержки роста плода подтверждалась результатами измерений росто-весовых показателей новорожденного. Группу контроля составили 243 женщины, у которых наблюдалось физиологическое течение беременности.

Критериями исключения из исследования считали: некоторые осложнения беременности (аномалии расположения и прикрепления плаценты, изосенсибилизация по резус фактору), наличие патологии матки (аномалии развития внутренних половых органов, фибромиома матки) и плодовые причины (генетические болезни, врожденные пороки развития), наличие многоплодной беременности [9]. По возрасту, росту исследуемых беременных группы были репрезентативны. Возраст беременных в группе с ЗРП составил

25,48±5,34 лет, группе контроля – 26,47±5,63 лет ($p>0,05$).

В соответствии с целью настоящей работы, посвященной изучению межлокусных взаимодействий генов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ в формировании задержки роста плода, осуществлен отбор пяти молекулярно-генетических маркеров матриксных металлопротеиназ: rs11568819 *MMP-7*, rs1799750 *MMP-1*, rs3025058 *MMP-3*, rs243865 *MMP-2*, rs17577 *MMP-9* и пяти полиморфных локусов генов, влияющих на фолатный цикл: rs2790 *TYMS*, rs699517 *TYMS*, rs1979277 *SHMT1*, rs1801394 *MTRR*, rs1805087 *MTR*. Полиморфные локусы отбирались для исследования согласно определенных критериев, которые учитывали их регуляторный потенциал и связь с экспрессией генов [24, 25]. Регуляторный потенциал SNPs оценивался *in silico* с использованием онлайн программного обеспечения HaploReg (v4.1) [26, 27].

Генотипирование полиморфных локусов генов осуществлялось стандартным методом ПЦР (использовались TaqMan зонды) на амплификаторе CFX-96 Real-Time System с использованием наборов реагентов для амплификации ДНК в молекулярно-генетических исследованиях (синтезированы в ООО «Синтол» (Москва)).

Изучение SNP×SNP взаимодействий, ассоциированных с развитием ЗРП проводилось с использованием метода снижения размерности MDR (Multifactor Dimensionality Reduction) в модификации Model-Based-MDR (MB-MDR) [28]. Для валидации результатов применялся пермутационный тест (выполнялось 1000 пермутаций). Статистически значимыми считали модели с $p_{perm}<0,05$. Расчеты выполняли в программном обеспечении MB-MDR (Version 2.6) для программной среды R. Метод MDR использовался также для оценки характера (синергизм, независимый эффект, антагонизм) и силы (доля вклада в энтропию) этих ген-генных взаимодействий и их визуализации в виде дендрограммы и графа.

Полиморфизмы, связанные с ЗРП, были проанализированы *in silico* на предмет их функциональной значимости (регуляторный потенциал, связь с экспрессией (eQTL) и альтернативным сплайсингом (sQTL) генов, несинонимические замены) с использованием атласа консорциума GTEx [29], баз данных HaploReg v4.1 (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>) и PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>). Для определения биологических путей использовались программы: Gene Ontology (<http://geneontology.org/>) и Genomania (<https://genomania.org/>).

Результаты исследования. Данные о распределении 5 изученных полиморфных локусов генов матриксных металлопротеиназ (rs11568819 *MMP-7*, rs1799750 *MMP-1*, rs3025058 *MMP-3*, rs243865 *MMP-2*, rs17577 *MMP-9*) и 5 генов, влияющих на фолатный цикл (rs2790 *TYMS*, rs699517 *TYMS*, rs1979277 *SHMT1*, rs1801394 *MTRR*, rs1805087 *MTR* 2756) представлены в таблицах 1 и 2. Для всех изученных полиморфных локусов наблюдается соответствие равновесию Харди-Вайнберга (HWE).

Выявлено 7 значимых моделей SNP×SNP взаимодействий генов матриксных металлопротеиназ и фолатного цикла, ассоциированных с развитием ЗРП: две модели двухлокусного взаимодействия, три – трехлокусного и две – четырехлокусного взаимодействия ($p_{perm} \leq 0,05$) (табл. 3). В состав этих 7-ми наиболее значимых моделей межгенных взаимодействий, ассоциированных с развитием ЗРП, входят восемь из 10 рассматриваемых SNPs: rs1805087 *MTR*, rs1801394 *MTRR*, rs1979277 *SHMT1*, rs1799750 *MMP-1*, rs243865 *MMP-2*, rs3025058 *MMP-3*, rs11568819 *MMP-7*,

rs17577 *MMP-9*. Среди них в наибольшее число моделей входят полиморфные локусы rs1979277 (7 моделей), rs243865 (4 модели), rs3025058 (3 модели). Следует подчеркнуть, что полиморфный локус rs1979277 *SHMT1* участвует в формировании всех 7 наиболее значимых моделей SNP×SNP взаимодействий (табл. 3). Изучение комбинаций генотипов, показало, что наиболее значимую ассоциацию с ЗРП имеет двухлокусная комбинация ТТ rs243865 *MMP2* x ТТ rs1979277 *SHMT1* ($\beta = -0,68$, $p=0,001$).

При помощи программы MDR визуализировано в виде графа и дендрограммы одно из наиболее значимых четырехлокусных SNP×SNP взаимодействий генов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ ($p_{perm}=0,005$, WH 31,46), вовлеченного в формирование ЗРП (рисунок 1).

Согласно данным, представленным на графе и дендрограмме между рассматриваемыми четырьмя полиморфизмами генов *MMP-1*, *MMP-9*, *MTR*, *SHMT1* наблюдаются три наиболее значимых взаимодействия. Так, между полиморфными локусами rs17577 и rs1979277 (-0,86% энтропии), rs1799750 и rs1805087 (-0,90% энтропии), rs1979277 и rs1805087 (-1,40% энтропии) выявлены антагонистические взаимодействия.

Функциональные эффекты полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ и фолатного цикла, ассоциированных с ЗРП в составе моделей межгенных взаимодействий представлены в таблице 4. Как видно из таблицы 5, 20 генов-кандидатов фолатного цикла и 18 генов кандидатов активности матриксных металлопротеиназ связаны с функциональными эффектами 8-ми изученных SNPs.

Таблица 1

Показатели, характеризующие распределение 5 полиморфных локусов генов метаболизма фолатов в изучаемых группах

Table 1

Indicators characterizing the distribution of 5 polymorphic loci of folate metabolism genes in the studied groups

Параметры	ЗРП (n = 234)					Контрольная группа (n = 243)				
	1	5	17	18	18	1	5	17	18	18
CHR	1	5	17	18	18	1	5	17	18	18
SNP	rs1805087	rs1801394	rs1979277	rs699517	rs2790	rs1805087	rs1801394	rs1979277	rs699517	rs2790
Ген	<i>MTR</i>	<i>MTRR</i>	<i>SHMT1</i>	<i>TYMS</i>	<i>TYMS</i>	<i>MTR</i>	<i>MTRR</i>	<i>SHMT1</i>	<i>TYMS</i>	<i>TYMS</i>
Минорный аллель	G	A	T	T	G	G	A	T	T	G
Частый аллель	A	G	C	C	A	A	G	C	C	A
Частота минорного аллеля	0,242	0,458	0,389	0,283	0,196	0,225	0,430	0,281	0,293	0,167
Число изученных хромосом	458	458	432	456	458	454	486	462	470	484
Распределение генотипов*	18/75/136	47/116/66	35/98/83	19/91/118	9/72/148	6/90/131	44/121/78	17/96/118	18/102/115	7/67/168
H ₀	0,327	0,507	0,454	0,399	0,314	0,396	0,498	0,416	0,434	0,277
H _e	0,367	0,497	0,475	0,406	0,316	0,348	0,490	0,404	0,415	0,279
P _{HWE}	0,106	0,792	0,566	0,870	1,000	0,055	0,896	0,747	0,532	0,821

Примечание: * – количество гомозигот по минорному аллелю / гетерозигот / гомозигот по частому аллелю. Используются методы логической регрессии. CHR – хромосома; SNP – однонуклеотидный полиморфизм; H₀ – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность. *MTR*: 5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза; *MTRR*: метионинсинтаза редуктаза; *SHMT1*: серингидроксиметилтрансфераза 1; *TYMS*: тимидилатсинтетаза. P_{HWE} – уровень значимости для соответствия равновесию Харди-Вайнберга (HWE).

Note: * – the number of homozygotes for the minor allele / heterozygotes / homozygotes for the frequent allele. Used methods of logical regression. CHR – chromosome; SNP – single nucleotide polymorphism; H₀ – observed heterozygosity; H_e – expected heterozygosity. *MTR*: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; *MTRR*: methionine synthase reductase; *SHMT1*: serine hydroxymethyltransferase 1; *TYMS*: thymidylate synthetase. P_{HWE} is the level of significance to match the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE).

Таблица 2

Показатели, характеризующие распределение 5 полиморфных локусов генов матриксных металлопротеаз в изучаемых группах

Table 2

Parameters characterizing the distribution of 5 polymorphic loci of matrix metalloprotease genes in the studied groups

Параметры	ЗРП (n = 234)					Контрольная группа (n = 243)				
	11	16	11	11	20	11	16	11	11	20
CHR	11	16	11	11	20	11	16	11	11	20
SNP	rs1799750	rs243865	rs3025058	rs11568819	rs17577	rs1799750	rs243865	rs3025058	rs11568819	rs17577
Ген	<i>MMP-1</i>	<i>MMP-2</i>	<i>MMP-3</i>	<i>MMP-7</i>	<i>MMP-9</i>	<i>MMP-1</i>	<i>MMP-2</i>	<i>MMP-3</i>	<i>MMP-7</i>	<i>MMP-9</i>
Минорный аллель	2G	T	5A	C	A	2G	T	5A	C	A
Частый аллель	1G	C	6A	T	G	1G	C	6A	T	G
Частота минорного аллеля	0,498	0,252	0,427	0,450	0,389	0,496	0,189	0,479	0,487	0,153
Число изученных хромосом	454	464	452	460	466	480	486	478	474	470
Распределение гено-типов*	54/118/55	19/79/134	40/113/73	43/121/66	7/72/154	60/118/62	10/72/161	60/109/70	65/101/71	4/64/167
H ₀	0,519	0,340	0,500	0,526	0,309	0,491	0,296	0,456	0,426	0,272
H _e	0,500	0,377	0,489	0,495	0,301	0,500	0,306	0,499	0,499	0,259
P _{HWE}	0,597	0,162	0,787	0,424	0,829	0,797	0,536	0,195	0,026	0,615

Примечание: * – количество гомозигот по минорному аллелю / гетерозигот / гомозигот по частому аллелю. В расчетах использованы методы логической регрессии. CHR – хромосома; SNP – однонуклеотидный полиморфизм. H₀ – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность. P_{HWE} – уровень значимости для соответствия равновесию Харди-Вайнберга (HWE) (используется критерий хи-квадрат).

Note: * – the number of homozygotes for the minor allele / heterozygotes / homozygotes for the frequent allele. Used methods of logical regression. CHR – chromosome; SNP – single nucleotide polymorphism; H₀ – observed heterozygosity; H_e – expected heterozygosity. *MTR*: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase; *MTRR*: methionine synthase reductase; *SHMT1*: serine hydroxymethyltransferase 1; *TYMS*: thymidylate synthetase. P_{HWE} is the level of significance to match the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE).

Таблица 3

Модели SNP x SNP взаимодействий генов матриксных металлопротеаз и фолатного цикла, ассоциированные с развитием ЗРП

Table 3

Models of SNP x SNP interactions of matrix metalloprotease genes and the folate cycle, associated with the development of FGR

N	Модели SNP x SNP взаимодействий	NH	betaH	WH	NL	betaL	WL	P _{perm}
Двухлокусные модели ($p < 2,7 * 10^{-3}$)								
1	rs17577 MMP9 x rs1979277 SHMT1	2	0,417	11,56	1	-0,138	7,15	0,009
2	rs243865 MMP2 x rs1979277 SHMT1	2	0,417	11,56	1	-0,169	10,38	0,01
Трехлокусные модели ($p < 1,4 * 10^{-5}$)								
3	rs243865 MMP2 x rs1805087 MTR x rs1979277 SHMT1	6	0,584	28,17	1	-0,134	4,65	<0,001
4	rs17577 MMP9 x rs1801394 MTRR x rs1979277 SHMT1	4	0,362	21,15	1	-0,166	4,27	0,002
5	rs3025058 MMP3 x rs243865 MMP2 x rs1979277 SHMT1	4	0,687	24,05	3	-0,223	15,24	0,006
Четырехлокусные модели ($p < 2 * 10^{-6}$)								
6	rs17577 MMP9 x rs1799750 MMP1 x rs1805087 MTR x rs1979277 SHMT1	5	0,693	31,46	1	-0,201	6,40	0,005
7	rs11568819 MMP7 x rs243865 MMP2 x rs1801394 MTRR x rs1979277 SHMT1	6	0,632	29,55	2	-0,276	8,43	0,050

Примечание: – результаты, полученные методом MB-MDR;

NH – число значимых сочетаний генотипов, которые связаны с повышенным риском формирования ЗРП;

beta H – коэффициент линейной регрессии для сочетаний генотипов, связанных с повышенным риском ЗРП;

WH – статистика Вальда, применяемая для сочетаний генотипов, связанных с повышенным риском ЗРП;

NL – количество значимых сочетаний генотипов, связанных с пониженным риском возникновения ЗРП;

beta L – коэффициент линейной регрессии для сочетаний генотипов, связанных с пониженным риском ЗРП;

WL – статистика Вальда, применяемая для сочетаний генотипов, связанных с пониженным риском формирования ЗРП;

P_{perm} – уровень значимости моделей после проведенного пермутационного теста (выполнено 1000 пермутаций).

Note: – results obtained by the MB-MDR method;

NH is the number of significant combinations of genotypes that are associated with an increased risk of developing FGR;

beta H is the linear regression coefficient for combinations of genotypes associated with an increased risk of FGR;

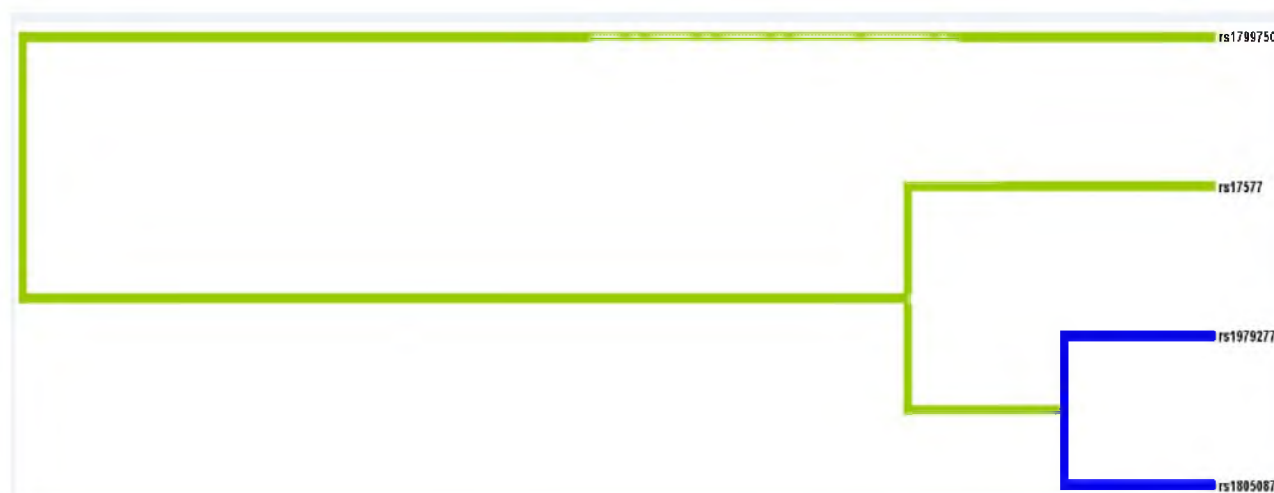
WH – Wald statistics used for combinations of genotypes associated with an increased risk of FGR;

NL is the number of significant combinations of genotypes associated with a reduced risk of FGR;

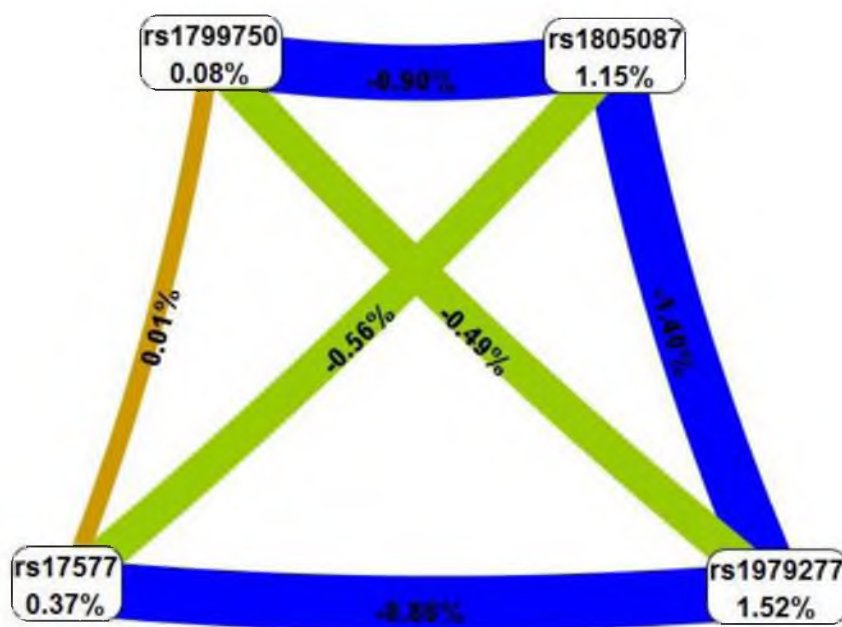
beta L is the linear regression coefficient for combinations of genotypes associated with a reduced risk of FGR;

WL – Wald statistics used for combinations of genotypes associated with a reduced risk of developing FGR;

P_{perm} is the level of significance of the models after the permutation test (performed 1000 permutations).



А.



Б.

Рис. 1. Дендрограмма (А) и граф (Б) наиболее значимое SNP×SNP взаимодействие, ассоциированное с развитием ЗРП (получены методом MDR). Характеризуют силу и направленность влияния полиморфных локусов и их сочетаний на развитие ЗРП (% энтропии).

При обозначении полиморфизма указаны хромосома и rs SNP. Коричневый – независимый эффект, зеленый и синий – умеренный и выраженный антагонизм в SNP×SNP взаимодействиях соответственно.

Fig. 1. Dendrogram (A) and graph (Б) of the most significant SNP×SNP interaction associated with the development of IGR (obtained by the MDR method). They characterize the strength and direction of the influence of polymorphic loci and their combinations on the development of IGR (% of entropy).

Brown – independent effect, green and blue – moderate and pronounced antagonism in SNP×SNP interactions, respectively.

Таблица 4

Функциональные эффекты полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ и фолатного цикла, ассоциированных с ЗРП в составе моделей межгенных взаимодействий

Table 4

Functional effects of matrix metalloproteinase and folate cycle gene polymorphisms associated with FGR in models of intergenic interactions

Полиморфизмы, ген	Перечень генов – кандидатов, связанных с функциональными эффектами 8-ми изученных SNPs				
	Несинонимические замены	Регуляторные эффекты	eQTL	sQTL	В целом
rs1805087 <i>MTR</i>	<i>MTR</i>	<i>MTR</i>	<i>MTR</i>	-	<i>MTR</i> <i>MTRR</i> <i>SHMT1</i> <i>LLGL1</i> <i>ALKBH5</i> <i>CTD-2303H24.4</i> <i>USP32P2</i> <i>TOR3A</i> <i>SMCR8</i> <i>SMCR7</i> <i>FAM106A</i> <i>LINCO2076</i> <i>LGALS9C</i> <i>MYO15A</i> <i>MIEF2</i> <i>EVPLL</i> <i>NOS2P2</i> <i>KRT17P2</i> <i>FOXO3B</i> <i>TBCID28</i> <i>MMP-1</i> <i>MMP-10</i> <i>WTAPP1</i> <i>LOC100288077</i> <i>RP11-212I21.2</i> <i>MMP-3</i> <i>MMP-7</i> <i>MMP-9</i> <i>SLC12A5</i> <i>PLTP</i> <i>SYS1</i> <i>SNX21</i> <i>RPL13P2</i> <i>DNTTIP1</i> <i>RP11-465L10.10</i> <i>CD40</i> <i>ACOT8</i> <i>ZNF335</i>
rs1801394 <i>MTRR</i>	<i>MTRR</i>	<i>MTRR</i>	<i>MTRR</i>	-	
rs1979277 <i>SHMT1</i>	<i>SHMT1</i>	<i>SHMT1</i> <i>SMCR7</i> <i>SMCR8</i> <i>TOR3A</i>	<i>SHMT1</i> <i>LLGL1</i> <i>ALKBH5</i> <i>CTD-2303H24.4</i> <i>USP32P2</i> <i>TOR3A</i> <i>SMCR8</i> <i>FAM106A</i> <i>LINCO2076</i> <i>LGALS9C</i> <i>MYO15A</i> <i>MIEF2</i> <i>EVPLL</i> <i>NOS2P2</i> <i>KRT17P2</i> <i>FOXO3B</i>	<i>SHMT1</i> <i>EVPLL</i> <i>USP32P2</i> <i>CTD-2303H24.2</i> <i>MYO15A</i> <i>TBCID28</i>	
rs1799750 <i>MMP-1</i>		<i>LOC100288077</i>	<i>MMP-1</i> <i>MMP-10</i> <i>WTAPP1</i>	<i>WTAPP1</i>	
rs243865 <i>MMP-2</i>		<i>LOC100288077</i>	<i>RP11-212I21.2</i>		
rs3025058 <i>MMP-3</i>	<i>MMP-3</i>	<i>MMP-3</i> <i>LOC100288077</i>		-	
rs11568819 <i>MMP-7</i>		<i>MMP-7</i>	<i>MMP-7</i>	-	
rs17577 <i>MMP-9</i>	<i>MMP-9</i>	<i>MMP-9</i> <i>ZNF335</i> <i>SLC12A5</i>	<i>MMP-9</i> <i>SLC12A5</i> <i>PLTP</i> <i>SYS1</i> <i>SNX21</i> <i>RPL13P2</i> <i>DNTTIP1</i> <i>RP11-465L10.10</i>	<i>CD40</i> <i>SLC12A5</i> <i>ACOT8</i>	

В программе Gene Ontology проанализированы биологические пути 38 рассматриваемых генов-кандидатов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ, связанных с функциональными эффектами

8-ми изученных SNPs. Выявлено более двадцати различных биологических путей, характеризующих функциональное значение этих генов в организме (таблица 5). Следует

отметить, что наибольшее сверхпредставительство (показатель $Fold\ Enrichment > 100$) имеют следующие биологические пути: катаболический распад коллагена ($p_{FDR}=3,09E-05$) и активация матриксных металлопротеиназ ($p_{FDR}=2,36E-06$). Также следует отметить, что наибольшую статистическую значимость, наряду с вышеуказанными путями, демонстрируют такие биологические пути, как, процесс метаболизма коллагена ($Fold\ Enrichment = 69,48$, $p_{FDR}=6,82E-05$), распад внеклеточного матрикса ($Fold\ Enrichment = 84,27$, $p_{FDR}=4,15E-05$), металлоэндопептидазная активность ($Fold\ Enrichment = 51,44$, $p_{FDR}=3,00E-05$), распад коллагена ($Fold\ Enrichment = 28,68$, $p_{FDR}=2,57E-05$).

На следующем этапе работы изучена генетическая сеть ген-генных взаимодействий 38 генов-кандидатов, связанных с формированием ЗРП, с использованием программы GeneMANIA. Оценка сети генов-кандидатов ЗРП (рисунок 2) показала, что их взаимодействия осуществляются через физические взаимодействия (74,27%), ко-экспрессию (22,53%), ко-локализацию (2,86%). Среди этих генов наиболее значимые взаимодействия выявлены между генами *MTR* и *MTRR* (показатель веса (*weight*) физические взаимодействия – 0,87), *MYH10* и *LLGL1* (физические взаимодействия – 0,82), *CD40LG* и *CD40* (физические взаимодействия – 0,78), *ABTB1* и *DNTTIP1* (физические взаимодействия – 0,73).

Итак, в результате проведенного исследования обнаружено 7 значимых моделей SNP×SNP взаимодействий генов матриксных металлопротеиназ и фолатного цикла, ассоциированных с развитием ЗРП, включающих восемь из десяти рассматриваемых SNPs (*rs1805087 MTR*, *rs1801394 MTRR*, *rs1979277 SHMT1*, *rs1799750 MMP-1*, *rs243865 MMP-2*, *rs3025058 MMP-3*, *rs11568819 MMP-7*, *rs17577 MMP-9*). В наибольшее число моделей входят полиморфные локусы *rs1979277 SHMT1* (7 моделей), *rs243865 MMP-2* (4 модели), *rs3025058 MMP-3* (3 модели). Полученные данные указывают на

тесную связь межлокусных взаимодействий генов фолатного цикла и матриксных металлопротеиназ с формированием задержки роста плода и их выраженные функциональные эффекты.

Предыдущие исследования показали, что матриксные металлопротеиназы играют важную регулируемую роль в имплантации и плацентации, обеспечивая успешную беременность [10, 11, 19]. Так, повышенные уровни *MMP-2* наблюдались во всех областях плаценты у женщин с преэклампсией, что, влияло на деградацию плацентарного внеклеточного матрикса [20]. Известно, что плацента образована сложными и строго регулируемые отношениями между тканями плода и матери, которые работают вместе, чтобы обеспечить успешную беременность. Она играет ключевую роль в имплантации, распознавании беременности матерью посредством синтеза гормонов, факторов роста и иммуномодулирующих реакций [30].

В работе Behforouz et al. была обнаружена значимая связь между полиморфизмом *MMP-3 rs35068180* и риском невынашивания беременности [10]. Достоверной связи между невынашиванием беременности и полиморфизмами в генах *MMP-2 (rs243865, rs2285053)* и *MMP-9 (rs3918242, rs17576)* не выявлено [10]. Perez et al., выполнившие исследование на базе Центра репродуктивной медицины Университета Чжэнчжоу в Китае, показали, что функциональные полиморфизмы генов *MMP-2-735 C/T* и *MMP-9-1562 C/T* могут быть связаны с повышенным риском идиопатического рецидивирующего самопроизвольного аборта у женщин [19].

Имеются литературные данные о связи SNPs изученных генов фолиевой кислоты с неблагоприятными исходами беременности в виде самопроизвольных преждевременных родов (*rs1801394 MTRR* и *rs1979277 SHMT1*) [31], дефектов нервной трубки (*rs1801394 MTRR*) [32, 33], рецидивирующих самопроизвольных абортов (*rs1801394 MTRR*) [14-16], маточно-плацентарной недостаточности (*rs1805087 MTR*) [4].

Таблица 5 (начало)

**Биологические пути реализации фенотипических эффектов 38 генов-кандидатов ЗРП
(Gene Ontology (GO) Portal tools, <http://geneontology.org>)**

Beginning of Table 5

**Biological pathways for the realization of phenotypic effects of 38 candidate genes for FGR
(Gene Ontology (GO) Portal tools, <http://geneontology.org>)**

База данных	Биологические пути	Количество генов:		Кратность «насыщения» генами (Fold Enrichment)	p	FDR
		в изучаемой выборке генов	среди 20595 генов, пред- ставленных в базе данных Gene Ontology			
GO biological process	Клеточный ответ на УФ лучи А спектра	11	3	> 100	6,42E-07	2,51E-03
	Кatabолический распад коллагена	38	5	> 100	1,97E-09	3,09E-05
	Процесс метаболизма коллагена	57	5	69,48	1,31E-08	6,82E-05
	Распад внеклеточного матрикса	47	5	84,27	5,29E-09	4,15E-05
	Организация внеклеточного матрикса	288	5	13,75	2,88E-05	5,65E-02
	Разрушение клеточных структур	291	5	13,61	3,03E-05	4,31E-02
	Метаболизм птеридинсодержащих соединений	34	3	69,89	1,34E-05	3,01E-02
Процесс метаболизма витаминов	100	4	31,68	8,38E-06	2,19E-02	
GO molecular function	Металлоэндопептидазная активность	111	5	35,68	3,09E-07	1,51E-03
	Активность эндопептидазы серинового типа	180	5	22,00	3,11E-06	7,61E-03
	Активность серингидролазы	201	5	19,70	5,26E-06	5,15E-03
PANTHER Pathways	Каскад активации плазминогена	21	3	> 100	3,54E-06	5,91E-04
	Активность пресенилина при болезни Альцгеймера	127	3	18,71	5,72E-04	4,78E-02
PANTHER GO-Slim Molecular Function	Металлоэндопептидазная активность	77	5	51,44	5,41E-08	3,00E-05
	Пептидазная активность	468	5	8,46	2,75E-04	2,18E-02
	Гидролазная активность	1760	9	4,05	2,00E-04	1,85E-02
	Каталитическая активность	3989	13	2,58	4,41E-04	2,72E-02
	Эндопептидазная активность	359	5	11,03	8,08E-05	1,50E-02
	Связывание Rab GTPase	106	3	22,42	3,42E-04	2,37E-02

Таблица 5 (окончание)

**Биологические пути реализации фенотипических эффектов 38 генов-кандидатов ЗРП
(Gene Ontology (GO) Portal tools, <http://geneontology.org>)**

End of Table 5

**Biological pathways for the realization of phenotypic effects of 38 candidate genes for FGR
(Gene Ontology (GO) Portal tools, <http://geneontology.org>)**

База данных	Биологические пути	Количество генов:		Кратность «насыщения» генами (Fold Enrichment)	p	FDR
		в изучаемой выборке генов	среди 20595 генов, пред- ставленных в базе данных Gene Ontology			
PANTHER GO-Slim Biological Process	Организация внеклеточного матрикса	116	5	34,14	3,82E-07	8,32E-04
	Организация клеточного комплекса	2624	12	3,62	3,16E-05	2,29E-02
	Организация клеточного компонента или био- генез	2750	12	3,46	5,06E-05	2,76E-02
PANTHER Protein Class	Металлопротеиназы	154	5	25,72	1,48E-06	2,85E-04
Reactome pathways	Дефектный MTR вызывает метилмалоновую ацидурию и гомоцистинурию типа cblG	2	2	> 100	9,16E-06	5,23E-03
	Дефекты метаболизма кобаламина (B12)	14	2	> 100	1,81E-04	4,14E-02
	Дефектный MTRR вызывает метилмалоновую ацидурию и гомоцистинурию типа cblE.	2	2	> 100	9,16E-06	4,18E-03
	Активация матриксных металлопротеиназ	33	5	> 100	1,03E-09	2,36E-06
	Деградация внеклеточного матрикса	140	5	28,29	9,37E-07	7,13E-04
	Метилирование	14	2	> 100	1,81E-04	4,61E-02
	Распад коллагена	64	5	61,88	2,25E-08	2,57E-05
	Сборка коллагеновых фибрилл и других мультимерных структур	60	3	39,61	6,72E-05	2,19E-02
	Образование коллагена	89	3	26,70	2,07E-04	4,31E-02
Внеядерная передача сигналов эстрогена	73	3	32,55	1,18E-04	3,36E-02	

Примечание: жирным выделены наиболее значимые показатели

Note: the most significant indicators are highlighted in bold

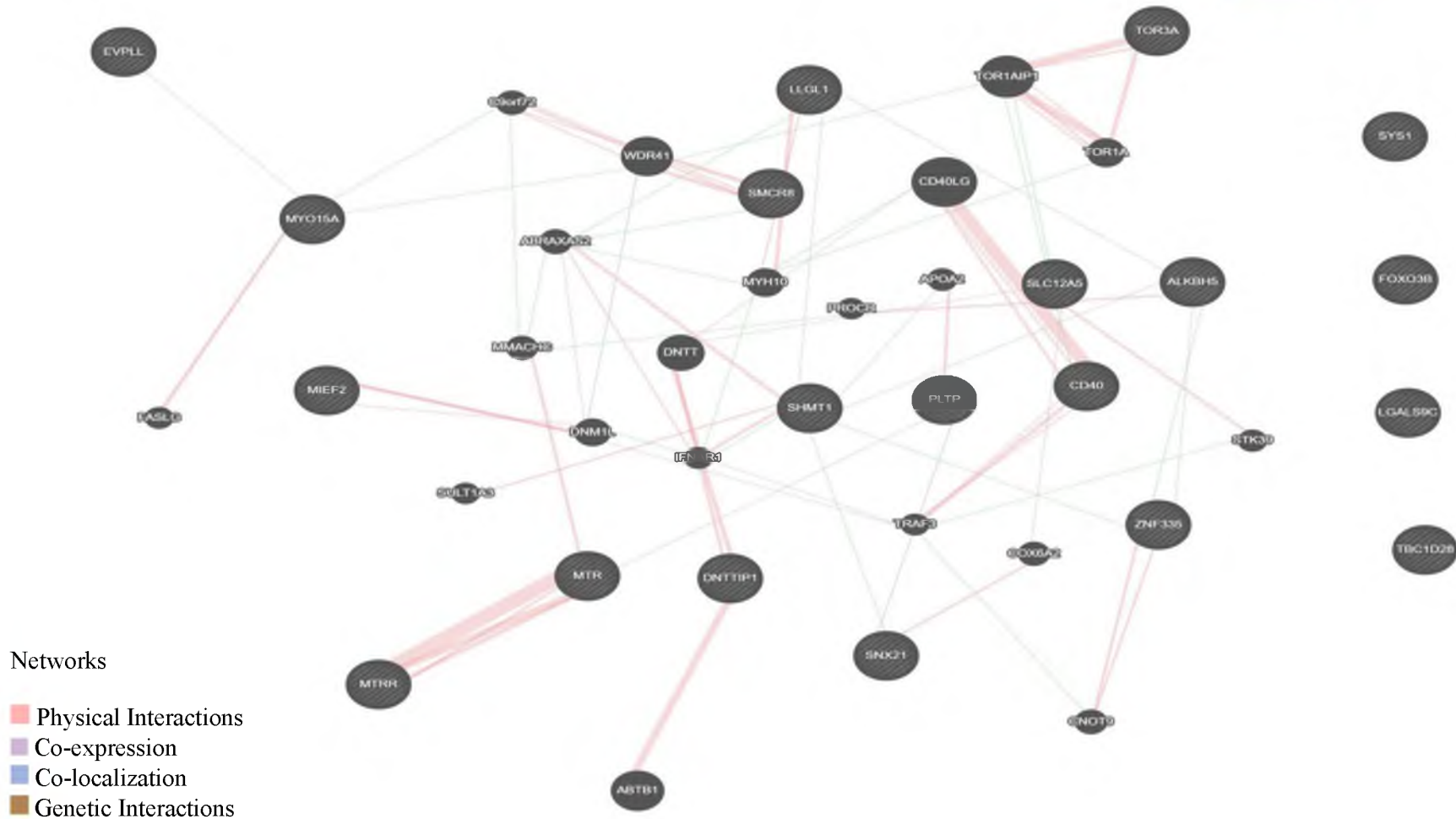


Рис. 2. Сети межгенных взаимодействий генов-кандидатов фолатного цикла и металлопротеаз, связанных с формированием ЗРП (получены с помощью онлайн программы GeneMANIA (<http://genemania.org>)) (штриховкой указаны гены, ассоциированные с развитием ЗРП по данным нашего исследования).

Fig. 2. Networks of intergenic interactions of folate cycle candidate genes and metalloproteases associated with the formation of FGR (obtained using the online program GeneMANIA (<http://genemania.org>)) (hatched genes are associated with the development of FGR according to our study).

Показана важная роль взаимодействия между потреблением фолиевой кислоты с пищей и rs1979277 *SHMT1* в развитии спонтанных преждевременных родов и ЗРП [31]. С другой стороны, в некоторых работах связи между проанализированными SNPs и такими осложнениями беременности как маточно-плацентарная недостаточность и ЗРП (rs1801394 *MTRR*) [13], преэклампсия (rs1805087 *MTR*, rs1801394 *MTRR*) [5, 18], ЗРП (rs1805087 *MTR*, rs1801394 *MTRR*) [5, 18, 34], спонтанные преждевременные роды (rs1805087 *MTR* и rs1801394 *MTRR*) [5], дефекты нервной трубки (rs1979277 *SHMT1*) [17] не были обнаружены.

Barbosa et al. [35] выявили связь между полиморфизмом гена *MTR* (rs1805087) и уровнем гомоцистеина у беременных женщин. Кроме того, данные, представленные в этой статье, показывают, что взаимодействие между кобаламиновым статусом и полиморфизмом гена *MTRR* (rs1801394) связано с уровнем гомоцистеина. Lin et al. [16] показали негативное влияние rs1801394 *MTRR* на уровень гомоцистеина и липидов в сыворотке крови у пациенток с рецидивирующим самопроизвольным абортom. Интересно, что уровень материнского гомоцистеина и маточно-плацентарная недостаточность могут коррелировать с rs1805087 *MTR* плода [13]. Независимая ассоциация rs1805087 *MTR* с более высоким риском дефицита фолата и гипергомоцистеинемии была обнаружена Li et al. [36, 37]. Низкий фолиевый статус и полиморфизмы генов фолатов (rs1801394 *MTRR* и rs1979277 *SHMT1*) могут оказывать синергетический эффект и определять аномальный липидный обмен [38].

Заключение. Таким образом, в настоящей работе установлено, что восемь из 10 рассматриваемых SNPs (rs1805087 *MTR*, rs1801394 *MTRR*, rs1979277 *SHMT1*, rs1799750 *MMP-1*, rs243865 *MMP-2*, rs3025058 *MMP-3*, rs11568819 *MMP-7*, rs17577 *MMP-9*) ассоциированы с развитием ЗРП. Ключевую роль в этих межлокусных взаимодействиях играют полиморфизмы rs1979277 гена *SHMT1*, rs3025058

гена *MMP-3* и rs243865 гена *MMP-2*. Вовлеченность этих локусов в биологические пути метаболизма фолатов и матриксных металлопротеиназ (катаболический распад коллагена и активация матриксных металлопротеиназ) определяет их патофизиологическую значимость при развитии ЗРП.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The author has no conflict of interest to declare.

Список литературы

1. Dumolt JH, Powell TL, Jansson T. Placental Function and the Development of Fetal Overgrowth and Fetal Growth Restriction. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2021;48(2):247-266. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2021.02.001>
2. Beune IM, Damhuis SE, Ganzevoort W, et al. Consensus Definition of Fetal Growth Restriction in Intrauterine Fetal Death: A Delphi Procedure. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2021;145(4):428-436. DOI: <https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0027-OA>
3. Решетников ЕА. Поиск ассоциаций генов-кандидатов, дифференциально экспрессирующихся в плаценте, с риском развития плацентарной недостаточности с синдромом задержки роста плода. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2020;6(3):338-349. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-3-0-5>
4. Diniz WJS, Reynolds LP, Ward AK, et al. Untangling the placentome gene network of beef heifers in early gestation. *Genomics*. 2022;114(2):110274. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2022.110274>
5. Jankovic-Karasoulos T, Furness DL, Leemaqz SY, et al. Maternal folate, one-carbon metabolism and pregnancy outcomes. *Maternal*

and Child Nutrition. 2021;17(1):e13064. DOI: <https://doi.org/10.1111/mcn.13064>

6. Головченко ОВ, Абрамова МЮ, Пономаренко ИВ, и др. Полиморфные локусы гена *ESR1* ассоциированы с риском развития преэклампсии с задержкой роста плода. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2020;14(6):583-591. DOI: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.187>

7. Golovchenko O, Abramova M, Ponomarenko I, et al. Functionally significant polymorphisms of *ESR1* and *PGR* and risk of intrauterine growth restriction in population of Central Russia. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2020;253:52-57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.07.045>

8. Головченко ОВ, Пономаренко ИВ, Чурносоев МИ. Полиморфизм rs5918 гена *ITGB3* повышает риск развития преэклампсии у беременных с задержкой роста плода. *Гинекология*. 2021;23(4):330-334. DOI: <https://doi.org/10.26442/20795696.2021.4.200863>

9. Efremova O, Ponomarenko I, Churnosov M. Maternal polymorphic loci of rs1979277 serine hydroxymethyl transferase and rs1805087 5-methylenetetrahydrofolate are correlated with the development of fetal growth restriction: A case-control study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*. 2021;19(12):1067-1074. DOI: <https://doi.org/10.18502/ijrm.v19i12.10057>

10. Behforouz A, Dastgheib SA, Abbasi H, et al. Association of *MMP-2*, *MMP-3*, and *MMP-9* Polymorphisms with Susceptibility to Recurrent Pregnancy Loss. *Fetal and Pediatric Pathology*. 2021;40(5):378-386. DOI: <https://doi.org/10.1080/15513815.2019.1710879>

11. Park HS, Ko KH, Kim JO, et al. Association Study between the Polymorphisms of Matrix Metalloproteinase (MMP) Genes and Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss. *Genes*. 2019;10(5):347. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes10050347>

12. Klai S, Fekih-Mrissa N, El Housaini S, et al. Association of *MTHFR* A1298C polymorphism (but not of *MTHFR* C677T) with elevated homocysteine levels and placental vasculopathies. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. 2011;22(5):374-378. DOI: <https://doi.org/10.1097/MBC.0b013e328344f80f>

13. Furness DLF, Fenech MF, Khong YT, et al. One-carbon metabolism enzyme polymorphisms and uteroplacental insufficiency. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2008;199(3):276.e1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2008.06.020>

14. Zhao X, Zhao Y, Ping Y, et al. Association between gene polymorphism of folate metabolism and recurrent spontaneous abortion in Asia: A Meta-analysis. *Medicine*. 2020;99(40):e21962. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000021962>

15. Zhang Y, Zhan W, Du Q, et al. Variants c.677 C>T, c.1298 A>C in *MTHFR*, and c.66 A>G in *MTRR* Affect the Occurrence of Recurrent Pregnancy Loss in Chinese Women. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2020;24(11):717-722. DOI: <https://doi.org/10.1089/gtmb.2020.0106>

16. Lin Z, Li Q, Sun Y, et al. Interactions between genetic variants involved in the folate metabolic pathway and serum lipid, homocysteine levels on the risk of recurrent spontaneous abortion. *Lipids in Health and Disease*. 2019;18(1):143. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1083-7>

17. Etheredge AJ, Finnell RH, Carmichael SL, et al. Maternal and infant gene-folate interactions and the risk of neural tube defects. *American Journal of Medical Genetics, Part A*. 2012;158A(10):2439-46. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35552>

18. Furness DLF, Dekker GA, McCormack CD, et al. The association of folate pathway enzyme polymorphisms and pregnancy outcome. *Reproduction, Fertility and Development*. 2009;21(9):121. DOI: <https://doi.org/10.1071/SRB09Abs522>

19. Perez N, Ostojic S, Volk M, et al. Matrix metalloproteinases 1, 2, 3 and 9 functional single-nucleotide polymorphisms in idiopathic recurrent spontaneous abortion. *Reproductive BioMedicine Online*. 2012;24(5):567-75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.01.008>

20. Li L, Liu J, Qin S, et al. The association of polymorphisms in promoter region of *MMP2* and *MMP9* with recurrent spontaneous abortion risk in Chinese population. *Medicine*. 2018;97(40):e12561. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012561>

21. Yan Y, Fang L, Li Y, et al. Association of *MMP2* and *MMP9* gene polymorphisms with the recurrent spontaneous abortion: A meta-analysis. *Gene*. 2021;767:145173. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145173>

22. Krivoshei IV, Altuchova OB, Polonikov AV, et al. Bioinformatic analysis of the liability to the hyperplastic processes of the uterus. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015;6(5):1563-6.

23. Reshetnikov E, Zarudskaya O, Polonikov A, et al. Genetic markers for inherited thrombophilia are associated with fetal growth retardation in the population of Central Russia. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2017;43:1139-1144. DOI: <https://doi.org/10.1111/jog.13329>
24. Пономаренко ИВ, Полоников АВ, Чурносоев МИ. Полиморфные локусы гена *LHCGR*, ассоциированные с развитием миомы матки. *Акушерство и гинекология*. 2018;10:86-91. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.10.86-91>
25. Пономаренко ИВ, Решетников ЕА, Полоников АВ, и др. Полиморфный локус rs314276 гена *LIN28B* ассоциирован с возрастом менархе у женщин Центрального Черноземья России. *Акушерство и гинекология*. 2019;2:98-104. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.2.98-104>
26. Ward LD, French BF, Barbosa-Leiker C, et al. Application of Exploratory Factor Analysis and Item Response Theory to Validate the Genomic Nursing Concept Inventory. *Journal of Nursing Education*. 2016;55(1):9-17. DOI: <https://doi.org/10.3928/01484834-20151214-05>
27. Ward LD, Kellis M. HaploReg v4: systematic mining of putative causal variants, cell types, regulators and target genes for human complex traits and disease. *Nucleic Acids Research*. 2016;44(D1):D877-81. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1340>
28. Calle ML, Urrea V, Malats N, et al. mbmdr: an R package for exploring gene-gene interactions associated with binary or quantitative traits. *Bioinformatics*. 2010;26(17):2198-9. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq352>
29. GTEx Consortium. The GTEx Consortium atlas of genetic regulatory effects across human tissues. *Science*. 2020;369:1318-1330. DOI: [10.1126/science.aaz1776](https://doi.org/10.1126/science.aaz1776)
30. Nardoza LMM, Caetano ACR, Zamaranian ACP, et al. Fetal growth restriction: Current knowledge. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2017;295:1061-1077. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-017-4341-9>
31. Engel SM, Olshan AF, Siega-Riz AM, et al. Polymorphisms in folate metabolizing genes and risk for spontaneous preterm and small-for-gestational age birth. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2006;195(5):1231.e1-11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.07.024>
32. Nasri K, Midani F, Kallel A, et al. Association of *MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, and *MTRR* A66G Polymorphisms with Neural Tube Defects in Tunisian Parents. *Pathobiology*. 2019;86(4):190-200. DOI: <https://doi.org/10.1159/000499498>
33. Yadav U, Kumar P, Yadav SK, et al. Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis. *Metabolic Brain Disease*. 2015;30(1):7-24. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9575-7>
34. Bulloch RE, Wall CR, McCowan LME, et al. The Effect of Interactions between Folic Acid Supplementation and One Carbon Metabolism Gene Variants on Small-for-Gestational-Age Births in the Screening for Pregnancy Endpoints (SCOPE) Cohort Study. *Nutrients*. 2020;12(6):1677. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12061677>
35. Barbosa PR, Stabler SP, Machado AL, et al. Association between decreased vitamin levels and *MTHFR*, *MTR* and *MTRR* gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2008;62(8):1010-21. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602810>
36. Li WX, Dai SX, Zheng JJ, et al. Homocysteine Metabolism Gene Polymorphisms (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *MTR* A2756G and *MTRR* A66G) Jointly Elevate the Risk of Folate Deficiency. *Nutrients*. 2015;7(8):6670-6687. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu7085303>
37. Li WX, Cheng F, Zhang AJ, et al. Folate Deficiency and Gene Polymorphisms of *MTHFR*, *MTR* and *MTRR* Elevate the Hyperhomocysteinemia Risk. *Clinical Laboratory*. 2017;63(3):523-533. DOI: [10.7754/Clin.Lab.2016.160917](https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2016.160917)
38. Li WX, Lv WW, Dai SX, et al. Joint associations of folate, homocysteine and *MTHFR*, *MTR* and *MTRR* gene polymorphisms with dyslipidemia in a Chinese hypertensive population: a cross-sectional study. *Lipids in Health and Disease*. 2015;14:43. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0040-3>

References

1. Dumolt JH, Powell TL, Jansson T. Placental Function and the Development of Fetal Overgrowth and Fetal Growth Restriction. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*. 2021;48(2):247-266. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2021.02.001>

2. Beune IM, Damhuis SE, Ganzevoort W, et al. Consensus Definition of Fetal Growth Restriction in Intrauterine Fetal Death: A Delphi Procedure. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 2021;145(4):428-436. DOI: <https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0027-OA>
3. Reshetnikov EA. Study of associations of candidate genes differentially expressing in the placenta with the development of placental insufficiency with fetal growth restriction. *Research Results in Biomedicine*. 2020;6(3):338-349. Russian. DOI: <https://doi.org/10.18413/2658-6533-2020-6-3-0-5>
4. Diniz WJS, Reynolds LP, Ward AK, et al. Untangling the placentome gene network of beef heifers in early gestation. *Genomics*. 2022;114(2):110274. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2022.110274>
5. Jankovic-Karasoulos T, Furness DL, Leemaqz SY, et al. Maternal folate, one-carbon metabolism and pregnancy outcomes. *Maternal and Child Nutrition*. 2021;17(1):e13064. DOI: <https://doi.org/10.1111/mcn.13064>
6. Golovchenko OV, Abramova MYu, Ponomarenko IV, et al. Polymorphic loci of the *ESR1* gene are associated with the risk of developing preeclampsia with fetal growth retardation. *Obstetrics, Gynecology and Reproduction*. 2020;14(6):583-591. Russian. DOI: <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.187>
7. Golovchenko O, Abramova M, Ponomarenko I, et al. Functionally significant polymorphisms of *ESR1* and *PGR* and risk of intrauterine growth restriction in population of Central Russia. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2020;253:52-57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.07.045>
8. Golovchenko OV, Ponomarenko IV, Churnosov MI. The rs5918 polymorphism in the *ITGB3* gene increases the risk for preeclampsia in pregnant women with fetal growth retardation. *Gynecology*. 2021;23(4):330-334. Russian. DOI: <https://doi.org/10.26442/20795696.2021.4.200863>
9. Efremova O, Ponomarenko I, Churnosov M. Maternal polymorphic loci of rs1979277 serine hydroxymethyl transferase and rs1805087 5-methylenetetrahydrofolate are correlated with the development of fetal growth restriction: A case-control study. *International Journal of Reproductive Biomedicine*. 2021;19(12):1067-1074. DOI: <https://doi.org/10.18502/ijrm.v19i12.10057>
10. Behforouz A, Dastgheib SA, Abbasi H, et al. Association of *MMP-2*, *MMP-3*, and *MMP-9* Polymorphisms with Susceptibility to Recurrent Pregnancy Loss. *Fetal and Pediatric Pathology*. 2021;40(5):378-386. DOI: <https://doi.org/10.1080/15513815.2019.1710879>
11. Park HS, Ko KH, Kim JO, et al. Association Study between the Polymorphisms of Matrix Metalloproteinase (MMP) Genes and Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss. *Genes*. 2019;10(5):347. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes10050347>
12. Klai S, Fekih-Mrissa N, El Housaini S, et al. Association of *MTHFR* A1298C polymorphism (but not of *MTHFR* C677T) with elevated homocysteine levels and placental vasculopathies. *Blood Coagulation and Fibrinolysis*. 2011;22(5):374-378. DOI: <https://doi.org/10.1097/MBC.0b013e328344f80f>
13. Furness DLF, Fenech MF, Khong YT, et al. One-carbon metabolism enzyme polymorphisms and uteroplacental insufficiency. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2008;199(3):276.e1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2008.06.020>
14. Zhao X, Zhao Y, Ping Y, et al. Association between gene polymorphism of folate metabolism and recurrent spontaneous abortion in Asia: A Meta-analysis. *Medicine*. 2020;99(40):e21962. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000021962>
15. Zhang Y, Zhan W, Du Q, et al. Variants c.677 C>T, c.1298 A>C in *MTHFR*, and c.66 A>G in *MTRR* Affect the Occurrence of Recurrent Pregnancy Loss in Chinese Women. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*. 2020;24(11):717-722. DOI: <https://doi.org/10.1089/gtmb.2020.0106>
16. Lin Z, Li Q, Sun Y, et al. Interactions between genetic variants involved in the folate metabolic pathway and serum lipid, homocysteine levels on the risk of recurrent spontaneous abortion. *Lipids in Health and Disease*. 2019;18(1):143. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1083-7>
17. Etheredge AJ, Finnell RH, Carmichael SL, et al. Maternal and infant gene-folate interactions and the risk of neural tube defects. *American Journal of Medical Genetics, Part A*. 2012;158A(10):2439-46. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35552>
18. Furness DLF, Dekker GA, McCormack CD, et al. The association of folate pathway enzyme polymorphisms and pregnancy outcome. *Reproduction, Fertility and Development*.

- 2009;21(9):121. DOI: <https://doi.org/10.1071/SRB09Abs522>
19. Perez N, Ostojić S, Volk M, et al. Matrix metalloproteinases 1, 2, 3 and 9 functional single-nucleotide polymorphisms in idiopathic recurrent spontaneous abortion. *Reproductive BioMedicine Online*. 2012;24(5):567-75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.01.008>
20. Li L, Liu J, Qin S, et al. The association of polymorphisms in promoter region of *MMP2* and *MMP9* with recurrent spontaneous abortion risk in Chinese population. *Medicine*. 2018;97(40):e12561. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012561>
21. Yan Y, Fang L, Li Y, et al. Association of *MMP2* and *MMP9* gene polymorphisms with the recurrent spontaneous abortion: A meta-analysis. *Gene*. 2021;767:145173. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145173>
22. Krivoshei IV, Altuchova OB, Polonikov AV, et al. Bioinformatic analysis of the liability to the hyperplastic processes of the uterus. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015;6(5):1563-6.
23. Reshetnikov E, Zarudskaya O, Polonikov A, et al. Genetic markers for inherited thrombophilia are associated with fetal growth retardation in the population of Central Russia. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*. 2017;43:1139-1144. DOI: <https://doi.org/10.1111/jog.13329>
24. Ponomarenko IV, Polonikov AV, Churnosov MI. Polymorphic LHCGR gene loci associated with the development of uterine fibroids. *Obstetrics and Gynecology*. 2018;10:86-91. Russian. DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2018.10.86-91>
25. Ponomarenko IV, Reshetnikov EA, Polonikov AV, et al. The polymorphic locus rs314276 of the *LIN28B* gene is associated with the age of menarche in women of the Central Black Earth Region of Russia. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;2:98-104. Russian. DOI: <http://dx.doi.org/10.18565/aig.2019.2.98-104>
26. Ward LD, French BF, Barbosa-Leiker C, et al. Application of Exploratory Factor Analysis and Item Response Theory to Validate the Genomic Nursing Concept Inventory. *Journal of Nursing Education*. 2016;55(1):9-17. DOI: <https://doi.org/10.3928/01484834-20151214-05>
27. Ward LD, Kellis M. HaploReg v4: systematic mining of putative causal variants, cell types, regulators and target genes for human complex traits and disease. *Nucleic Acids Research*. 2016;44(D1):D877-81. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1340>
28. Calle ML, Urrea V, Malats N, et al. mbmdr: an R package for exploring gene-gene interactions associated with binary or quantitative traits. *Bioinformatics*. 2010;26(17):2198-9. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq352>
29. GTEx Consortium. The GTEx Consortium atlas of genetic regulatory effects across human tissues. *Science*. 2020;369:1318-1330. DOI: [10.1126/science.aaz1776](https://doi.org/10.1126/science.aaz1776)
30. Nardoza LMM, Caetano ACR, Zamarjian ACP, et al. Fetal growth restriction: Current knowledge. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2017;295:1061-1077. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-017-4341-9>
31. Engel SM, Olshan AF, Siega-Riz AM, et al. Polymorphisms in folate metabolizing genes and risk for spontaneous preterm and small-for-gestational age birth. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2006;195(5):1231.e1-11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2006.07.024>
32. Nasri K, Midani F, Kallel A, et al. Association of *MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, and *MTRR* A66G Polymorphisms with Neural Tube Defects in Tunisian Parents. *Pathobiology*. 2019;86(4):190-200. DOI: <https://doi.org/10.1159/000499498>
33. Yadav U, Kumar P, Yadav SK, et al. Polymorphisms in folate metabolism genes as maternal risk factor for neural tube defects: an updated meta-analysis. *Metabolic Brain Disease*. 2015;30(1):7-24. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11011-014-9575-7>
34. Bulloch RE, Wall CR, McCowan LME, et al. The Effect of Interactions between Folic Acid Supplementation and One Carbon Metabolism Gene Variants on Small-for-Gestational-Age Births in the Screening for Pregnancy Endpoints (SCOPE) Cohort Study. *Nutrients*. 2020;12(6):1677. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12061677>
35. Barbosa PR, Stabler SP, Machado AL, et al. Association between decreased vitamin levels and *MTHFR*, *MTR* and *MTRR* gene polymorphisms as determinants for elevated total homocysteine concentrations in pregnant women. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2008;62(8):1010-21. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602810>
36. Li WX, Dai SX, Zheng JJ, et al. Homocysteine Metabolism Gene Polymorphisms (*MTHFR* C677T, *MTHFR* A1298C, *MTR* A2756G

and *MTRR* A66G) Jointly Elevate the Risk of Folate Deficiency. *Nutrients*. 2015;7(8):6670-6687. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu7085303>

37. Li WX, Cheng F, Zhang AJ, et al. Folate Deficiency and Gene Polymorphisms of *MTHFR*, *MTR* and *MTRR* Elevate the Hyperhomocysteinemia Risk. *Clinical Laboratory*. 2017;63(3):523-533. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2016.160917

38. Li WX, Lv WW, Dai SX, et al. Joint associations of folate, homocysteine and *MTHFR*, *MTR* and *MTRR* gene polymorphisms with dyslipidemia in a Chinese hypertensive population: a cross-sectional study. *Lipids in Health and Disease*. 2015;14:43. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0040-3>

Статья поступила в редакцию 17 октября 2021 г.

Поступила после доработки 28 ноября 2021 г.

Принята к печати 20 декабря 2021 г.

Received 17 October 2021

Revised 28 November 2021

Accepted 20 December 2021

Информация об авторе

Олеся Адамовна Ефремова, врач-генетик, Клиника репродуктивной медицины им. академика В.И. Грищенко, г. Харьков, Украина, E-mail: efremovaolesya@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3710-9942>.

Information about the author

Olesya A. Efremova, Geneticist, Grishchenko Clinic of Reproductive Medicine, Kharkov, Ukraine, E-mail: efremovaolesya@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3710-9942>.